

ESTUDIO SOBRE BIOMARCADORES MOLECULARES PARA EL DIAGNÓSTICO Y EL SEGUIMIENTO DE ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

STUDY ON MOLECULAR BIOMARKERS FOR DIAGNOSING AND FOLLOWING AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Claudia Fornés Pérez^{a*}

Fechas de recepción y aceptación: 1 de junio de 2019, 15 de julio de 2019

RESUMEN

Introducción: La esclerosis lateral amiotrófica o ELA es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por una degradación gradual de la función de las motoneuronas, lo que provoca una parálisis muscular progresiva. Actualmente, el diagnóstico de la ELA suele ser tardío, ya que no hay pruebas diagnósticas específicas ni tampoco tratamiento efectivo, considerándose, así, una enfermedad neurodegenerativa letal y con una supervivencia limitada. Por ello, se necesitan estudios que ayuden a la aportación de biomarcadores para el diagnóstico y el seguimiento de la ELA con tratamientos experimentales. *Objetivos:* Revisión de la literatura científica actual acerca de los biomarcadores moleculares de la ELA para el diagnóstico precoz y seguimiento de la enfermedad, en modelo humano. *Metodología:* Revisión bibliográfica basada en la búsqueda en diferentes bases de datos de gran relevancia (PubMed, EBSCO, CUIDEN y SciELO). *Resultados:* Los resultados obtenidos tras el análisis bibliográfico muestran diversos biomarcadores para el diagnóstico y seguimiento de la ELA, tanto esporádica como familiar. Estos marcadores seleccionados poseen una alta sensibilidad y especificidad respondiendo al objetivo planteado. *Conclusiones:* Determinadas moléculas

^a Centro de Salud del Grau de Gandía.

* Correspondencia: Centro de Salud del Grau de Gandía. Calle La Goleta, 17. 46730 (Playa de Gandía), Valencia. España.

E-mail: fornes_cla@gva.es



han sido caracterizadas como marcadores diagnósticos característicos de la ELA, pudiendo ayudar a un diagnóstico precoz y eficaz de la enfermedad.

Palabras clave: esclerosis lateral amiotrófica, biomarcadores, plasma, microRNA.

ABSTRACT

Introduction: Amyotrophic Lateral Sclerosis or ALS is a neurodegenerative disease characterized by a gradual degradation of the function of the motor nerve cells, causing progressive muscular paralysis. At present, the diagnosis of ALS is usually delayed because there are no specific diagnostic tests nor is there an effective treatment, so it is considered to be a deadly neurodegenerative disease with limited rate of survival. Therefore, research is needed to help the identification of biomarkers for the diagnosis and the follow-up of ALS with experimental treatments. *Objective:* Review of the current scientific literature about the molecular biomarkers in ALS for its early diagnostic and follow-up, in human model. *Methodology:* Bibliographic review based on the search of information in several relevant databases (PubMed, EBSCO, CUIDEN and SciELO). *Results:* The results obtained after the bibliographic analysis show various biomarkers for the diagnosis and follow-up of both sporadic and familial ALS. These selected markers have a high sensitivity and specificity, thus responding to the proposed objective. *Conclusions:* Certain molecules have been characterized as diagnostic markers of ALS, being helpful in an early and effective diagnosis of the disease.

Keywords: Amyotrophic Lateral Sclerosis, biomarkers, plasma, microRNA.

INTRODUCCIÓN

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una de las principales enfermedades neurodegenerativas del adulto, caracterizada por una progresiva degradación tanto de las neuronas motoras superiores de la corteza motora primaria como de las neuronas motoras inferiores del tronco cerebral y la médula espinal¹. El pronóstico de vida de estos pacientes es de unos 3-5 años desde la aparición de los síntomas, pero un pequeño porcentaje sobrevive aproximadamente 10 años^{2,3}. Se caracteriza por la debilidad, atrofia muscular, fasciculaciones musculares, calambres y espasticidad muscular con dificultad para hablar (disartria), disfagia e incluso dificultad respiratoria, la cual llega a ser, en muchos casos, la causa de muerte²⁻⁵.

Se pueden distinguir dos variantes de ELA: ELA esporádica, responsable del 90-95 % de los casos y ELA familiar, causante del 5-10 % de los casos¹.



La ELA esporádica tiene etiología desconocida, aunque se cree que puede deberse a factores ambientales, toxinas o alteraciones genéticas^{1,4}. En la ELA familiar la causa es genética y existen pruebas de estar causada por mutaciones en diversos genes^{1,3,4}.

Para introducirse en el estudio de biomarcadores, es necesario conocer la patogenia de la ELA desde el punto de vista molecular. Las motoneuronas presentan una vulnerabilidad selectiva a procesos patogénicos como la excitotoxicidad, el estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, los agregados proteicos y la neuroinflamación⁶⁻¹⁰.

Excitotoxicidad

Uno de los neurotransmisores implicados en la transmisión de los impulsos nerviosos en el sistema nervioso central (SNC) es el glutamato⁷. En la ELA, la excitotoxicidad motoneuronal está causada por la alteración producida en el sistema glutaminérgico (por la alteración del equilibrio del calcio intracelular y la producción de radicales libres)⁹.

En el sistema glutaminérgico, el transportador excitatorio de aminoácidos tipo 2 (EAAT2) es el transportador específico encargado de liberar el glutamato en el espacio sináptico^{3,9}.

En la ELA existe un fallo en la recaptación de glutamato en la motoneurona, por lo que este aminoácido permanece en el espacio sináptico produciendo una sobreestimulación sobre los receptores de membrana del glutamato. Todo ello conlleva daño en los orgánulos neuronales e incluso muerte neuronal y apoptosis⁷. Además, la presencia de especies de oxígeno reactivo (ROS) y de nitrógeno (RNS) incrementa el daño producido en este proceso excitotóxico^{3,11}.

Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es una de las principales causas de degeneración neuronal debido a la alteración del equilibrio entre la producción y eliminación



de los radicales libres ROS y RNS^{7,8,12,13}. Como consecuencia de este proceso habrá una cantidad excesiva de radicales libres en la célula que provocan alteraciones en la estructura de las proteínas, en los lípidos, en el DNA, etc., características propias de la ELA^{7,10,15}. Para disminuir el impacto del estrés oxidativo en el organismo, el propio cuerpo lleva inherente un sistema de defensa¹⁰. Este sistema está formado por antioxidantes cuya función consiste en contrarrestar los efectos de ROS/RNS para prevenir el daño de los tejidos celulares^{10,13}.

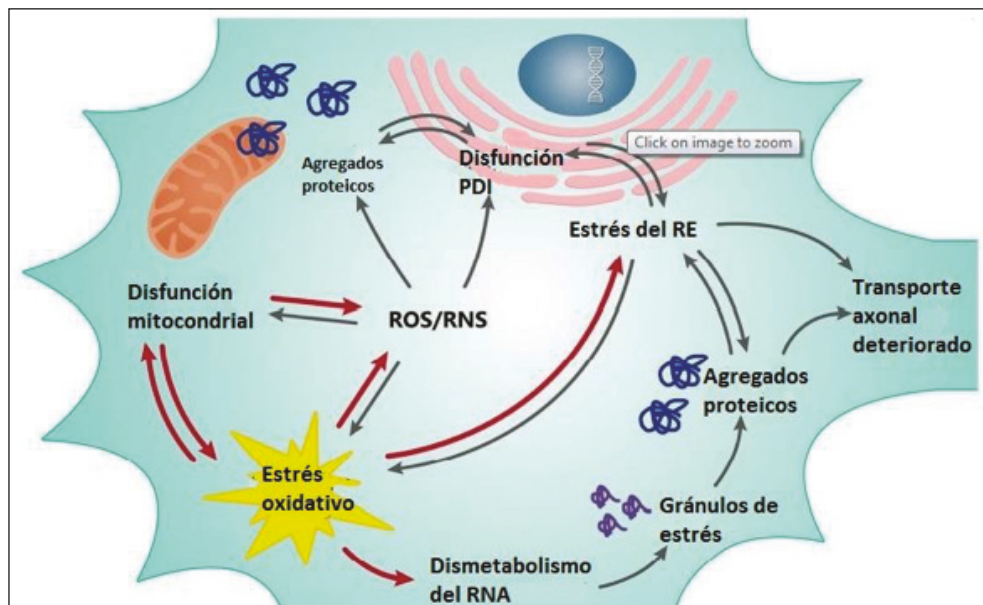
Disfunción mitocondrial

Diversos estudios han demostrado que en la ELA hay un daño en la morfología mitocondrial y, por tanto, de las funciones que esta realiza, considerándose, así, como un factor contribuyente a la evolución de las enfermedades neurodegenerativas^{7,9}. Como consecuencia de esta disfunción mitocondrial se manifiestan múltiples alteraciones como la interrupción de la respiración celular, por lo que hay una privación de energía en forma de ATP, aumento de ROS/RNS, lo que causa mayor daño mitocondrial, falta de equilibrio en las concentraciones de calcio intracelular por la excitotoxicidad causada en el sistema glutaminérgico y daño en el mtDNA y, por tanto, del mtRNA, lo que provoca mutaciones en la síntesis proteica y la disminución de la concentración de antioxidantes celulares^{5,7,9,15}.

Como etiología del daño mitocondrial (figura 1) se encuentra el propio proceso neurodegenerativo y la presencia de algunas mutaciones proteicas como SOD1 mitocondrial (mSOD1), que provoca que la concentración de superóxido aumente^{5,6,9}.



FIGURA 1
Daño mitocondrial en ELA. Extraído y modificado de Carri et al.⁸



Neuroinflamación

La activación de la microglía y los astrocitos, la infiltración de linfocitos T y la producción de citoquinas inflamatorias forman parte del proceso de pérdida de función neuronal cerebral denominada neuroinflamación^{9,14,17,18}.

Además, diversos estudios han encontrado alteraciones en múltiples péptidos inflamatorios, como la proteína C reactiva (PCR), la interleucina-6 (IL-6) e interleucina-13 (IL-13) y la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1)⁶.

Las microglías son células que forman parte de la inmunidad innata del SNC. Asimismo, inspeccionan el medio celular y responden a las señales producidas por los tejidos dañados^{14,17,18}. Cada una de estas señales son detectadas rápidamente por la microglía, produciendo una alteración en la homeostasis cerebral, por lo que hay un cambio en la morfología, que libera citoquinas para paliar el daño tisular producido¹⁷.



La microgliosis (proliferación de microglías) y la astrogliosis (proliferación de astrocitos) son procesos neuroinflamatorios característicos de la ELA¹⁸. La activación de la microglía se debe a un error en el plegamiento de proteínas como la mSOD1, por lo que se liberan moléculas citotóxicas como ROS, NO, proteasas y citoquinas inflamatorias como la interleucina 1 beta (IL-1 β), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) e interleucina-6 (IL-6)^{9,14}.

Los astrocitos forman parte del mantenimiento de las neuronas del SNC y de las concentraciones de glutamato extracelular¹⁴. En la ELA, con la pérdida de transportadores de glutamato EAAT2, se produce un exceso en la concentración de glutamato en el espacio sináptico y los astrocitos no pueden equilibrar estas concentraciones, lo que produce toxicidad en las motoneuronas¹⁴. Durante este proceso, los astrocitos liberan sustancias inflamatorias como prostaglandinas E2, leucotrieno B4 (LTB4), NO y NADPH oxidasa 2 (NOX-2). Además, los astrocitos pueden activar las caspasas, proteínas marcadoras de muerte celular¹⁴.

Son muchos los estudios que en los últimos 5 años han investigado marcadores de la enfermedad de ELA. Ello se debe a que los avances sobre la fisiopatología molecular de la enfermedad se van conociendo paulatinamente, como se ha indicado con anterioridad. Pero es necesario conocer qué marcadores son los más efectivos a la hora del diagnóstico, así como en el seguimiento de la enfermedad. Sobre todo, en el caso de un tratamiento experimental, donde se pretenda seguir la progresión de la enfermedad y su evolución tanto a nivel molecular como motora.

Tras este análisis, el objetivo del estudio es indicar qué biomarcadores diagnósticos son los más estudiados y de fácil análisis, especificando los más apropiados para la ELA esporádica y los más adecuados en el diagnóstico y seguimiento de la ELA familiar, estableciendo, asimismo, las perspectivas para utilizar dichos biomarcadores en el futuro estudio de tratamiento de la ELA.

METODOLOGÍA

El trabajo consta de una revisión narrativa basada en la búsqueda documental de artículos científicos seleccionados. Dicha búsqueda se ha centrado



en las generalidades de la ELA y en la presencia de marcadores biomoleculares de la enfermedad.

Para realizar la búsqueda de artículos se consultaron las bases de datos siguientes: PubMed, EBSCO, CUIDEN y SciELO.

La terminología empleada en la búsqueda se basó en diversos términos clave correspondientes al tema tratado. Por ello, los tesauros empleados y extraídos desde la plataforma MeSH han sido: “Amyotrophic Lateral Sclerosis”, “biomarkers”, “plasma” y “microRNA”.

Por otra parte, para realizar la búsqueda estratégica de artículos en castellano, se consultó la base de datos DeCS, donde se utilizaron los tesauros “Esclerosis Amiotrófica Lateral”, “biomarcadores”, “plasma” y “microRNA”.

Se realizó una primera búsqueda estratégica utilizando los tesauros “Amyotrophic Lateral Sclerosis” AND “biomarkers” AND “plasma”, pero al pretender un estudio de biomarcadores moleculares de fácil medición, se realiza una segunda búsqueda más específica utilizando el tesoro “microRNA” en combinación con el operador booleano NOT (puesto que el análisis de microRNA no sigue una técnica sencilla y en la actualidad supone un análisis complejo).

Para la selección de los artículos científicos se aplicaron los siguientes criterios de selección:

Criterios de inclusión: investigaciones clínicas, realizadas en humanos.

Criterios de exclusión: todos aquellos trabajos que no eran estudios originales y experimentales, como revisiones de cualquier tipo. También aquellos con una antigüedad mayor a diez años y los que se repetían en las bases de datos. Por último, se excluyeron los trabajos que no describían directamente moléculas como marcadores de la ELA ni la forma de obtenerlas en plasma.

Dado que se pretende estudiar biomarcadores de fácil medición y, en la actualidad, el análisis de microRNA sigue una metodología compleja, se añade un nuevo criterio de exclusión: microRNA para la obtención de biomarcadores de fácil medición, conforme lo descrito en el apartado anterior.

A continuación. Se especifica la búsqueda realizada también mediante un diagrama de flujo:



Trabajos localizados por búsqueda estratégica de palabras claves: 102 artículos en PubMed + 46 artículos en EBSCO + 0 artículos en CUIDEN + 0 artículos en SciELO.



Criterios de exclusión
e inclusión



Exclusión:

- Trabajos que no sean estudios originales, como revisiones
- Antigüedad mayor de 10 años
- Artículos repetidos en las bases de datos

Inclusión:

- Investigaciones clínicas

33 en PubMed + 10 en EBSCO + 0 en CUIDEN + 0 en SciELO artículos científicos que cumplen con los criterios.



Nuevo criterio de
exclusión



Se añade un nuevo criterio de exclusión, NOT microRNA, ya que se pretende realizar un estudio de biomarcadores moleculares de fácil medición.



Aplicando los criterios de inclusión y exclusión citados anteriormente, se encontraron un total de 25 artículos en PubMed y 6 artículos en EBSCO.



Investigaciones científicas utilizadas para realizar el estudio sobre biomarcadores moleculares para el diagnóstico y seguimiento de ELA: 31 estudios.

RESULTADOS/DISCUSIÓN

Los conocimientos actuales sobre los mecanismos fisiopatológicos de la ELA subyacen en la excitotoxicidad glutaminérgica, en el estrés oxidativo, en la disfunción mitocondrial y en la neuroinflamación, que finalmente



conducen a la neurotoxicidad producida en las motoneuronas. Dado que la aparición sintomatológica ocurre tiempo después del comienzo de la neurotoxicidad, se necesitan conocer biomarcadores clínicos para mejorar la velocidad y precisión del proceso diagnóstico; más aún tratándose de una enfermedad con un tiempo limitado de supervivencia y sin tratamiento curativo^{3,6,7,9,10,15,17}.

Tras el estudio realizado, podemos observar que verdaderamente sí que hay biomarcadores con elevada sensibilidad y especificidad, aunque su utilización diagnóstica es dificultosa dada la diferencia en los mecanismos fisiopatológicos de cada paciente. Durante la realización del trabajo, se han encontrado un total de 31 artículos que analizan los niveles de determinados biomarcadores en plasma y en LCR. Además, se han combinado cada uno de los resultados con los biomarcadores más utilizados. De ellos, 26 artículos son descriptivo-observacionales, mientras que 5 estudios son experimentales. Muchos de ellos son longitudinales.

A continuación, se describen dichos resultados según el tipo de biomarcadores estudiados en los artículos seleccionados.

Biomarcadores de estrés oxidativo

Como se ha descrito anteriormente, el estrés oxidativo es una de las principales causas de degeneración neuronal en múltiples enfermedades neurodegenerativas (entre las que se encuentra la ELA) debido a la alteración producida por sus respectivos radicales libres y la alteración en la homeostasis del sistema redox^{7,10,12}.

Con el objetivo de saber cuáles eran los biomarcadores de estrés oxidativo en ELA se encontraron un total de siete estudios que investigan este propósito (tabla 1).

Fueron varios estudios los que encontraron una disminución importante de los niveles en plasma del urato (relacionados con la progresión de la enfermedad) por el aumento de concentración de 3-nitrotirosina. Además, se encontró un incremento en la concentración de bilirrubina no conjugada^{19,20}. Continuando con el urato (que también tiene actividad antioxidante), la disminución significativa de los niveles en plasma en los pacientes enfermos demuestra también la asociación con la progresión, la supervivencia y el aumento de estrés oxidativo²¹. Cabe destacar que esta deficiencia de actividad antioxidante provoca un aumento excesivo de ROS y RNS, produciendo un



daño celular generalizado, concorde a lo anteriormente descrito^{10,12}. Con ello se constata que la disminución de la actividad antioxidante del urato está directamente correlacionada con el aumento de daño oxidativo producido en el organismo enfermo de ELA.

Además, el aumento significativo de 3-nitrotirosina y 8-hidroxiguanina tanto en plasma como LCR en los pacientes con ELA (tanto esporádica como familiar) demuestran el rol que el daño oxidativo desempeña en la enfermedad, por lo que se consideran biomarcadores de estrés oxidativo¹⁹. Es importante señalar que ambos biomarcadores no son específicos de la ELA, sino que son marcadores de estrés oxidativo en enfermedades neurodegenerativas en general.

Por otra parte, el ratio de %CoQ10 (porcentaje de CoQ10) y el %PUFA (porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados) estaba alterado, y se corrobora un incremento en los niveles de daño oxidativo en los pacientes con ELA; mientras %CoQ10 aumentaba, %PUFA disminuía¹⁹. Al no ser biomarcadores específicos de ELA lo conveniente sería utilizarlos junto al objetivo de establecer un perfil de biomarcadores característicos de ELA tanto para su diagnóstico como para que constituya un indicador de estrés oxidativo.

Otro biomarcador de estrés oxidativo descrito fue el MDA (malondialdehído), que presentaba concentraciones plasmáticas importantes en comparación con el grupo sano²². El MDA es uno de los marcadores de estrés oxidativo más utilizados a nivel internacional. El problema que presenta es que no existe un protocolo bien establecido para cuantificarlo a través de HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia), y por ELISA ha dado algunos problemas, por lo que su utilización ha generado cierta controversia.

Además, al tratarse de un marcador de estrés oxidativo, se encuentra aumentado en plasma si existe cualquier tipo de proceso oxidativo, no solo en la ELA²². En ese mismo estudio, junto a otro²⁰, se analizaron “productos de proteínas de oxidación avanzada” (AOPP) y la capacidad reductora de hierro del plasma (FRAP), los cuales fueron considerados como biomarcadores típicos para medir el nivel de oxidación plasmático en la ELA. Mientras que las concentraciones de AOPP y FRAP aumentaban, las de los tioles libres disminuían según Baillet et al.²², aunque en el estudio realizado por LoGerfo et al. se mantenían en concentraciones normales²⁰. Por ello, la utilización de los

tioles libres en plasma no sería adecuada, debido a la falta de especificidad y la controversia mostrada en este apartado.

Muchas de las características neuromotoras en ELA pueden deberse a la acumulación de metales neurotóxicos, siendo este el motivo de estudio realizado por Roos et al. Se encontraron altas concentraciones de Mn, Al, Cd, Co, Cu, Zn, Pb, V y U en LCR de pacientes con ELA. Por otra parte, niveles ligeramente elevados de Hg y Ag fueron encontrados en plasma. Muchos de estos metales poseen propiedades neurotóxicas, por lo que el paso y acumulación de estas moléculas en la barrera hematoencefálica podrían producir las características celulares neurodegenerativas típicas de la ELA²⁴. No obstante, concentraciones plasmáticas de selenio y zinc fueron significativamente menores en ELA, según Baillet et al.²², demostrando una falta de cohesión entre ambos estudios que dificulta la determinación de marcadores típicos de ELA. De todas formas, pese a dichas diferencias, es indiscutible la aparición de concentraciones elevadas de metales pesados en enfermos de ELA. Sería importante tener este punto en cuenta a la hora de realizar un seguimiento de enfermos de ELA y ver si es posible aplicar un tratamiento que disminuya sus niveles y se relacione con una buena progresión.

Sobre las enzimas antioxidantes, se observó que la actividad de la SOD1, responsable del 20 % de los casos de ELA familiar, como se ha descrito anteriormente¹, es notablemente menor en los pacientes enfermos, por lo que esta disminución se correlaciona con la progresión de la enfermedad, demostrando el aumento de lesiones proteicas oxidativas^{22,23}.

Al igual que la SOD1, la actividad de la GPx (relacionada con el rápido progreso de la enfermedad) y GR también disminuye significativamente en comparación con el grupo control²³. Sin embargo, en el estudio realizado por Baillet et al., la actividad de la GPx permanecía en rangos normales²². Como se ha indicado en la introducción, la SOD está mutada en los casos de ELA familiar, pero no en los de la esporádica^{1,4}, hecho que hace que la mutación de SOD sea un marcador de diagnóstico de ELA familiar importante.

Por último, en la realización de un estudio sobre la enfermedad de Parkinson se observaron diversas analogías con la ELA. Se demostró que los niveles plasmáticos de 24OH-C (24-hidroxicolesterilo) se encontraban disminuidos en los pacientes con enfermedades neurodegenerativas, entre ellas la ELA, pero debido a su inespecificidad solo podría utilizarse para medir el daño



oxidativo producido con la progresión de la enfermedad junto con la actividad de la enzima LCAT (lecitín-colesterol acil transferasa) que disminuye con el aumento de daño oxidativo²⁵.

Por ello, los marcadores descritos en el presente apartado muestran la implicación del daño oxidativo en la ELA, además de la alteración del sistema redox, característica propia de la ELA detallada anteriormente^{7,12,15}. Pero de los descritos, serían unos buenos candidatos como marcadores de estrés oxidativo el MDA, el 24OH-C y el estudio de AOPP y FRAPP para la ELA esporádica, SOD en el caso de la familiar y la 3-nitrotirosina y la 8- hidroxiguanina en ambos.

TABLA 1

Artículos científicos donde se han estudiado biomarcadores de estrés oxidativo en ELA

NOMBRE DEL ARTÍCULO	AUTOR	RESULTADOS	REF.
Increased oxidative stress in patients with ALS and the effect of edaravone administration	Nagase M, Yamamoto Y, Miyazaki Y, Yoshino H	-Marcadores de estrés oxidativo como la 3- nitrotirosina y 8- hidroxiguanina se encontraron incrementados en los pacientes con ELA esporádica. -A mayor daño oxidativo hay un incremento significativo de %CoQ10 (porcentaje de Coenzima Q10), una disminución en los niveles de urato y una fuerte reducción en %PUFA (porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados).	19
Lack of association between nuclear factor erythroid- derived 2-like 2 promoter gene polymorphisms and oxidative stress biomarkers in ALS	LoGerfo A, Chico L, Borgia L, Petrozzi L, Rocchi A, D'Amelio A, et al.	-Como biomarcadores plasmáticos de daño oxidativo se han descrito los productos de proteínas de oxidación avanzada (AOPP), la capacidad reductora de hierro del plasma (FRAP) y el urato (relacionado con la progresión de la enfermedad). Mientras que AOPP aumenta, FRAP y el urato disminuyen.	20
Pre-diagnostic plasma urate and the risk of ALS	O'Reilly ÉJ, Bjornvik K, Schwarzschild MA, McCullough ML, Kolonel LN, Le Marchand L, et al.	-Significativa disminución de los niveles plasmáticos de urato en pacientes con ELA; por ello su potencial uso como biomarcador.	21



<i>NOMBRE DEL ARTÍCULO</i>	<i>AUTOR</i>	<i>RESULTADOS</i>	<i>REF.</i>
The role of oxidative stress in ALS and PD	Baillet A, Chanteperdrix V, Trocmé C, Cazez P, Garrel C, Besson G	-La concentración plasmática del malondialdehído (MDA) es notablemente mayor que en el grupo control, mientras que la del selenio, los tioles libres y el zinc es menor. -Mientras que la actividad de la SOD1 es más baja en ELA, la del glutatión peroxidasa (GPx) permanece en niveles normales.	22
Time course of oxidant markers and antioxidant defenses in subgroups of ALS	Cova E, Bongioanni P, Cereda C, Metelli MR, Salvaneschi L, Bernuzzi S, et al.	-Alteración de la actividad de diversas enzimas antioxidantes (SOD1, GPx y glutatión reductasa (GR)) en comparación con el grupo control.	23
Metal concentrations in CSF and blood plasma from patients with ALS	Roos PM, Vesterberg O, Syversen T, Flaten TP, Nordberg M	-Importante aumento en las concentraciones de Mn, Al, Cd, Co, Cu, Zn, Pb, V y U (en LCR) y Hg y Ag (en plasma) en los pacientes con ELA.	24
The level of 24- hydroxy-cholesteryl esters decreases in plasma of patients with PD	Di Natale C, Monaco A, Pedone C, Tesitore A, De Mase A, Tedeschi G et al.	-La enzima lecitín-colesterol acil transferasa (LCAT) como biomarcador oxidativo dada su alteración en plasma y LCR. -Uso del 24-hidroxicolesterilo como biomarcador de lesión oxidativa dada su significativa disminución en plasma en el grupo de ELA.	25

Biomarcadores metabólicos

Se encontraron siete estudios científicos que observaban el uso de la metabolómica para la obtención de diversos biomarcadores diagnósticos y de progresión de ELA esporádica tanto en muestras plasmáticas como en LCR (véase tabla 2). Los diversos estudios han mostrado una gran batería de metabolitos que se podrían utilizar como biomarcadores tanto de pronóstico como de progresión. No se han encontrado contradicciones en los siguientes resultados:



Un significativo aumento de glutamato y cisteína también fueron distinguidos en pacientes con ELA tanto en plasma (relacionándose con la duración de la enfermedad) como en muestra de LCR^{26,27}. Referente a lo descrito anteriormente en la introducción, se confirma el aumento del glutamato en el espacio sináptico, que produce una excitotoxicidad capaz de dañar la célula, provocando la apoptosis^{7,9}. Pero aunque este aumento de glutamato es indicativo de ELA, se necesitan más estudios para verificar su utilización como biomarcador diagnóstico debido a la baja especificidad que presenta en la actualidad.

Como biomarcadores diagnósticos de la enfermedad se demostraron el 2-hidroxibutirato, α -cetoglutarato, cortisona, colesterol, 1-estearoil-GPI, octadecanedioato, araquidonato, dodecanedioato, ácidos grasos de cadena larga, ácidos dicarboxílicos, creatina, palmitoil y urato (comentado en el apartado anterior), los cuales presentaban alteraciones importantes en los niveles en las muestras en comparación con el grupo control²⁹. Aunque se hayan descrito como biomarcadores diagnósticos, se necesitan más estudios científicos que confirmen el uso de estos marcadores con una sensibilidad y especificidad adecuada para el diagnóstico precoz de la enfermedad, procedimiento indispensable para la confirmación del proceso patológico en la etapa temprana de la enfermedad, como se ha descrito en la introducción^{2,4,6}, con el objetivo de aumentar la supervivencia de las personas con ELA.

Por otra parte, en el estudio realizado por Lawton et al., se demostró el uso del estearoil esfingomielina como biomarcador de rotura mielinica²⁸, proceso relacionado con la pérdida de motoneuronas, característica principal de la ELA ya comentada¹. Además, se ha demostrado una correlación longitudinal entre la pérdida de creatinina y el avance de la enfermedad, pudiendo utilizarse como biomarcador para monitorizar la progresión de la enfermedad³¹.

Cabe destacar que otros metabolitos plasmáticos presentan concentraciones alteradas que favorecen la diferenciación de los pacientes con ELA del grupo control. Niveles aumentados de creatina, L-carnitina, lisolipidos, esfingolipidos, prolina y monofosfato de adenosina se estudiaron en plasma, mientras que se encontraron disminuidos la creatinina, triptófano betaina, ácido ribónico, la prostaglandina A2, ácido homovanílico, hipoxantina y cisteamina^{28,30}. Cabe destacar que estos metabolitos no presentan una alteración relevante, por lo que no ayudarían al diagnóstico o seguimiento de estos pa-



cientes, pero si se instauraran conjuntamente en un perfil de biomarcadores podrían respaldar la diagnosis de la ELA.

Por último, a través de un estudio sobre el trastorno del espectro autista se observó las analogías de esta enfermedad con la ELA. Por ello, se demostró que había una alteración en el metabolismo del colesterol generando un efecto neurotóxico a las células³², característica imprescindible en la enfermedad de ELA, aunque no queda demostrada su utilidad como biomarcador.

Algunos de los estudios anteriores, al ser de tipo transversal, solo nos indican el aumento de determinados metabolitos en plasma, pero no sabemos cómo podría variar en el tiempo, haciendo necesaria la elaboración de más estudios para verificar su utilización como biomarcador cuando realizamos una intervención en los enfermos de ELA.

En resumen, dentro de la metabolómica se encuentran como biomarcadores diagnósticos el 2-hidroxitbutirato, α -cetoglutarato, cortisona, colesterol, 1-estearoil-GPI, octadecanedioato, araquidonato, dodecanedioato, ácidos grasos de cadena larga, ácidos dicarboxílicos, creatina, palmitoil y urato. Además, el uso del glutamato como biomarcador podría ser indicativo de ELA, aunque se necesitan estudios más ampliados. Por otra parte, el uso de la creatinina como biomarcador de progresión queda demostrado.

Estos resultados nos vuelven a indicar la necesidad de realizar un perfil de biomarcadores para cualquiera de los casos de ELA.

TABLA 2

Artículos científicos donde se ha estudiado la metabolómica como biomarcador en ELA

NOMBRE DEL ARTÍCULO	AUTOR	RESULTADOS	REF.
Capillary electrophoresis tandem mass spectrometry determination of glutamic acid and homocysteine's metabolites: Potential biomarkers of ALS	Cieslarova Z, Lopes FS, Do Lago CL, França MC Jr, Colnaghi Simionato AV	-Las concentraciones de glutamato y cisteína eran significativamente mayores en los pacientes con ELA.	26
Peripheral biomarkers of excitotoxicity in neurological diseases	Tremolizzo L, Sala G, Ferrarese C	-Aumento relevante de los niveles de glutamato en plasma (relacionándose con la progresión de la enfermedad) y LCR en ELA.	27



<i>NOMBRE DEL ARTÍCULO</i>	<i>AUTOR</i>	<i>RESULTADOS</i>	<i>REF.</i>
Biochemical alterations associated with ALS	Lawton KA, Cudkowicz ME, Brown MV, Alexander D, Caffrey R, Wulff JE et al.	-Esteroil esfingomielina como marcador de rotura mielínica dados los niveles alterados en ELA. -Aumento significativo de los niveles plasmáticos de L- carnitina, lisolípidos y esfingolípidos en ELA mientras que los de triptófano betaina disminuyen.	28
Plasma metabolomic bio-marker panel to distinguish patients with ALS from disease mimics	Lawton KA, Brown MV, Alexander D, Li Z, Wulff JE, Lawson R et al.	-Ciertos metabolitos plasmáticos han sido demostrados como biomarcadores diagnósticos dado su importante aumento en el grupo enfermo. -Los ácidos grasos de cadena larga, los ácidos dicarboxílicos, creatina y el palmitoil aumentan significativamente en el plasma de los pacientes con ELA, mientras que el urato y la creatinina disminuyen.	29
Multi-platform mass spectrometry analysis of the CSF and plasma metabolomes of rigorously matched ALS, PD and control subjects	Wuolikainen A, Jonsen P, Ahnlund M, Antti H, Marklund SL, Moritz T et al.	-Diversos metabolitos plasmáticos presentaban alteraciones importantes en los pacientes enfermos en comparación con el grupo de referencia.	30
Monitoring disease progression with plasma creatinine in ALS clinical trials	Van Eijk RPA, Eijkemans MJC, Ferguson TA, Nikolakopoulos S, Veldink JH, Vanden Berg LH	-Los niveles plasmáticos de creatinina disminuyen conforme la progresión de la enfermedad, considerándose, así, un biomarcador de progresión y supervivencia en ELA.	31
Plasma oxysterol profiling in children reveals 24-hydroxycholesterol as a potential marker for Autism Spectrum Disorders	Grayaa S, Zerbinati C, Messedi M, HadjKacem I, Chtourou M, Ben Touhemi D et al.	-Potencial uso del oxysterol como biomarcador debido a la alteración en las concentraciones en los pacientes con ELA.	32

Cistatina C como biomarcador

Dos artículos sobre el potencial uso de la cistatina C fueron encontrados en la búsqueda realizada (tabla 3), llegando a las siguientes conclusiones:



En ambos estudios realizados se encontraron diversas analogías como la disminución de los niveles de esta proteína en LCR en comparación con el grupo control. Sin embargo, la concentración plasmática de la cistatina C aumentaba en los pacientes con ELA^{33,34}. La variación de los resultados en ambas muestras muestra una capacidad limitada de diagnóstico, pero sí podría mejorar los parámetros diagnósticos de la enfermedad si se utilizase junto con un perfil de biomarcadores definidos como específicos de la ELA.

Además, la disminución de los niveles de cistatina C a lo largo del tiempo indicaría la utilidad de esta proteína como biomarcador de progresión. Asimismo, se demostró la utilidad de la cistatina C en LCR como biomarcador de pronóstico y de supervivencia; a mayor concentración en LCR de cistatina C, mayor supervivencia^{33,34}.

La cistatina C tiene propiedades tanto neurotóxicas como neuroprotectoras, por lo que el adecuado equilibrio en las concentraciones mantiene un funcionamiento fisiológico idóneo. Cabe destacar que la cistatina C elevada en LCR aparece en condiciones inflamatorias, mostrando así relación con la neuroinflamación, mecanismo patológico característico de ELA ya mostrado en la introducción^{9,14}. Sin embargo, la utilización de la cistatina C como parámetro diagnóstico necesitaría ser analizado en mayor profundidad, debido a la presencia de neuroinflamación en otras enfermedades neurodegenerativas y no solamente en la ELA.

TABLA 3

Artículos científicos donde se han estudiado el potencial uso de la cistatina como biomarcador en ELA

<i>NOMBRE DEL ARTÍCULO</i>	<i>AUTOR</i>	<i>RESULTADOS</i>	<i>REF.</i>
Cystatin C: a candidate biomarker for ALS	Wilson ME, Boumaza I, Lacomis D, Bowser R	-Cistatina C como biomarcador diagnóstico en ELA por su significativa reducción en LCR y aumento en plasma. -Cistatina C como biomarcador pronóstico y de progresión: a menor concentración de cistatina C en LCR, menor supervivencia.	33



<i>NOMBRE DEL ARTÍCULO</i>	<i>AUTOR</i>	<i>RESULTADOS</i>	<i>REF.</i>
Protein biomarkers for ALS: characterization and implications for disease pathogenesis	Wilson ME	-Aumento significativo de cistatina C en plasma en comparación con la disminución en muestra de LCR. -Los cambios longitudinales de cistatina C en LCR demuestra su potente utilización como biomarcador de progresión y pronóstico.	34

TDP-43 como biomarcador

Se han encontrados dos estudios que investigan la proteína TDP-43 (que es codificada por el gen TARDBP) como posible biomarcador tanto de ELA esporádica como familiar (véase tabla 4). En ambos estudios se llegan a las siguientes conclusiones:

Tanto un grupo como el otro demostraron que los niveles de TDP-43 en los pacientes con ELA fueron significativamente mayores respecto al grupo control, a pesar de la diferencia de la muestra (Verstraete et al. realizan el estudio en plasma, mientras que el otro estudio es en LCR)^{35,36}.

Como se ha mostrado en la introducción, alrededor del 5 % de los casos de ELA familiar presentan una mutación del gen; por tanto, la proteína codificada TDP-43 sí podría servir como un buen biomarcador diagnóstico para la ELA familiar^{1,3,4}. Pero, como indican Verstraete et al., en estudios longitudinales no hay variación de TDP-43 en el tiempo en enfermos de ELA³⁵. Además, según Kasai et al. existe una disminución de los niveles de TDP-43 conforme disminuyen el número de motoneuronas en la medula espinal³⁶; por ello, no sería un buen marcador en estudios de intervención en los que quisiéramos valorar si nuestro tratamiento provoca mejoras en el enfermo³⁶.

En resumen, el uso del biomarcador TDP-43 en la etapa inicial de la enfermedad podría ayudar al diagnóstico tanto de la ELA esporádica como de la familiar, aunque se debería ampliar el estudio debido a las diferencias encontradas entre ambas investigaciones.



TABLA 4
*Artículos científicos donde se han estudiado la posibilidad de TDP-43
 como biomarcador en ELA*

<i>NOMBRE DEL ARTÍCULO</i>	<i>AUTOR</i>	<i>RESULTADOS</i>	<i>REF.</i>
TDP-43 plasma levels are higher in ALS	Verstraete E, Kuiperij HB, Van Blitterswijk MM, Veldink JH, Schelhaas HJ, Vanden Berg LH et al.	-Niveles plasmáticos aumentados de TDP-43 en enfermos de ELA, correlacionándose positivamente con la edad.	35
Increased TDP-43 protein in cerebrospinal fluid of patients with ALS	Kasai T, Tokuda T, Ishigami N, Sasayama H, Foulds P, Mitchell DJ et al.	-Las concentraciones de TDP-43 en LCR fueron mayores en los pacientes con ELA en comparación con el grupo control. -Los niveles de TDP-43 aumentan en estadios tempranos de la enfermedad.	36

Otros biomarcadores

Por último, otras investigaciones se han realizado con el objetivo de hallar nuevos marcadores para ELA (véase tabla 5).

Varios han sido los estudios que hablan sobre el factor de crecimiento VEGF, aunque hay controversia entre los distintos resultados. Carilho et al. observaron la existencia de niveles altos de VEGF en plasma y niveles bajos en muestras de LCR en comparación con el grupo control. Además, factores externos como el comienzo de la ventilación mecánica pueden modular la expresión de VEGF³⁷. Sin embargo, en el estudio realizado por Mitchell se observó un aumento significativo de los niveles de VEGF (en la muestra de LCR) con el avance de la enfermedad en comparación con el grupo control y en controversia con los resultados anteriores³⁹. Tras las diferencias mostradas, queda descartado el uso del VEGF como biomarcador de progresión.

De igual modo, MCP-1 (proteína quimioatrayente de monocitos 1) y GM-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos) también son considerados como biomarcadores de progresión, puesto que en varios estudios se demuestra que con el progreso de la enfermedad hay un aumento significativo de los niveles plasmáticos de MCP-1, mientras que los de



GM-CSF disminuyen³⁸⁻⁴⁰. Cabe señalar que la alteración de la MCP-1 ya fue indicada anteriormente en la introducción⁶, por lo que su utilización como biomarcador queda demostrada tras observar la alteración producida en los enfermos de ELA.

En estos mismos estudios también se manifiesta que los niveles de L-ferritina y transferrina están alterados frente al grupo de referencia. Mientras que L-ferritina aumenta significativamente, los niveles plasmáticos de transferrina disminuyen, considerándose así biomarcadores diagnósticos³⁸⁻⁴⁰.

Por otra parte, varios estudios analizaron las concentraciones de PCR, un importante marcador inflamatorio del organismo. En varios trabajos se observó que no había una diferencia importante en las concentraciones de PCR en LCR entre el grupo control y los pacientes enfermos^{38,39,43}. Sin embargo, en el estudio realizado por Lunetta et al. se demuestra el uso de la PCR (proteína C reactiva) como biomarcador pronóstico en ELA debido a la correlación directa existente entre el aumento significativo de los valores en LCR y la reducción de la supervivencia⁴¹. Basándonos en los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad descritos con anterioridad⁶, el uso de esta proteína inflamatoria sí podría utilizarse en ELA, ya que la neuroinflamación es un mecanismo inherente a la enfermedad.

Los biomarcadores plasmáticos predictivos que diferían significativamente entre pacientes y grupo control por su respectivo aumento eran: MCP-1, GM-CSF, G-CSF (factor estimulante de colonias de granulocitos) y diversas citoquinas inflamatorias como la IL-8, IL-10 e IL-12. Niveles de IL-8, G-CSF, IL-10 indicaban mayor supervivencia, mientras que los de MCP-1 e IL-12 eran indicativos de una duración menor^{39,40}.

Otro marcador característico demostrado es el CC-16 (proteína de las células clara), un biomarcador de disfunción pulmonar significativamente aumentado en el plasma del grupo con ELA. Además, la alteración en los niveles mostraba una mayor progresión de la enfermedad junto con la necesidad de ventilación mecánica no invasiva dentro de los seis meses posteriores, incrementando así el riesgo de muerte. Por ello, es considerado un marcador de progresión en la enfermedad⁴². Asimismo, la pNFH (cadena pesada de neurofilamento fosforilado) y el complemento C3 también fueron considerados como biomarcadores pronósticos por su aumento significativo en los pacientes enfermos de ELA⁴³.



Por otro lado, la cuantificación de los niveles de globulina Gc libre en LCR podría servir para el diagnóstico precoz de la enfermedad, dado que el significativo aumento en los pacientes con ELA en la etapa inicial de la enfermedad es característico⁴⁴.

Como biomarcadores diagnósticos de ELA esporádica también se encontraron la ChT (quitotriosidasa) y TNF α en muestras de LCR por su importante aumento en la actividad⁴⁵. Cabe destacar que el aumento de la enzima ChT podría entenderse como un proceso neuroinflamatorio que incrementa en la fase temprana de la edad, como se ha demostrado en los puntos descritos anteriormente^{9,14}. En referencia al aumento de TNF α queda demostrado su uso como biomarcador diagnóstico ya que, como se había dicho en la introducción, durante la activación de la microglía se liberaban altas dosis de TNF α , moléculas citotóxicas generadas durante la neuroinflamación^{14,18}.

Las muestras plasmáticas de plomo, CTX (telopéptido C-terminal del colágeno tipo I) y PINP (propéptido N-terminal del protocógeno tipo I) fueron mayores en ELA en comparación con el grupo control, lo que supone una correlación inversa con la supervivencia; por ello, se podrían utilizar como marcadores de progresión. Además, la exposición a plomo también se asoció con un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, por lo que podría utilizarse como marcador pronóstico en ELA esporádica⁴⁶.

La utilización de los péptidos TLQP podría ser indicador del diagnóstico precoz de ELA esporádica por su pronta respuesta ante el estrés oxidativo. Asimismo, el descenso significativo de los niveles plasmáticos acorde al progreso de la enfermedad podría considerarse como un biomarcador de progresión. Por ello, su uso como biomarcador diagnóstico y de progresión quedaría demostrado, aunque se deberían realizar más análisis sobre su utilización como tal con el propósito de un diagnóstico precoz de la enfermedad juntamente con un tratamiento farmacológico eficaz⁴⁷. Además, el NAA (ácido N-acetil aspártico), marcador indicativo de la actividad metabólica neuronal, podría utilizarse en ELA esporádica como biomarcador asociado a la pérdida de función neuronal, característica ya vista en la introducción¹, y causante de la sintomatología de la enfermedad⁴⁸.

Por último, en el caso del estudio realizado por Von Lueder et al., se observó que más de la mitad de los pacientes con ELA tenían niveles elevados de CK (creatina quinasa) en plasma sanguíneo, además del aumento de



troponina T, dando indicios de daño muscular o fatiga. La utilización de CK como marcador genera controversia, ya que, si bien es cierto que en la ELA se produce una distrofia muscular, demostrada anteriormente en la introducción¹, los niveles elevados de CK también pueden aparecer elevados en procesos miocárdicos o debido a la toma de ciertos medicamentos, por lo que su uso como biomarcador en ELA queda descartado⁴⁹.

Por todo lo comentado, como biomarcador diagnóstico de ELA esporádica se indican la L-ferritina, transferrina, ChT, TNF α , péptidos TLQP, globulina Gc libre y NAA. Por otro lado, son considerados como biomarcadores tanto de pronóstico como de progresión la CC-16, MCP-1, GM-CSF, PCR, plomo, pNFH, el complemento C3 y ciertas citoquinas inflamatorias como la IL-8, IL-10 e IL-12. Además, el uso del factor de crecimiento VEGF como biomarcador de progresión también ha sido propuesto, aunque se necesitan más estudios debido a la falta de evidencias respecto al tema.

TABLA 5

Artículos científicos donde se han estudiado posibles biomarcadores en ELA

NOMBRE DEL ARTÍCULO	AUTOR	RESULTADOS	REF.
Vascular endothelial grow factor and ALS: the interplay with exercise and noninvasive ventilation	Carilho R, De Carvalho M, Swash M, Pinto S, Pinto A, Costa J	-Los pacientes en fase avanzada y con ventilación no invasiva presentaban aumento de VEGF en ambas muestras.	37
Plasma biomarkers associated with ALS and their relationship with iron homeostasis	Mitchell RM, Simmons Z, Beard JL, Stephens HE, Connor JR	-Sugieren que podrían ser biomarcadores de progresión tanto MCP-1 como GM-CSF en plasma. -L-ferritina y transferrina como biomarcadores diagnósticos.	38
Contribution of HFE polymorphisms to pathogenetic mechanisms of ALS	Mitchell RM	-Citoquinas inflamatorias en plasma alteradas en ELA. -L-ferritina y transferrina asociados con el diagnóstico de ELA. -MCP-1 y GM-CSF en plasma como biomarcadores de progresión.	39



NOMBRE DEL ARTÍCULO	AUTOR	RESULTADOS	REF.
Investigating the interplay of intrinsic to extrinsic factors influencing ALS disease progression	Su XM	-Perfil de biomarcadores predictivos en ELA compuesto por diversas citoquinas inflamatorias en plasma. -L-ferritina asociada al diagnóstico y la progresión de ELA tras los niveles alterados en plasma.	40
Serum C-Reactive Protein as a Prognostic Biomarker in ALS	Lunetta C, Lizio A, Maestri E, Sansone VA, Mora G, Miller RG et al.	-Potencial uso de la proteína C reactiva (PCR) como biomarcador de pronóstico en los enfermos de ELA.	41
Plasma level of club-cell (CC-16) predicts outcome in ALS	Pronto-Laborinho AC, Gromicho M, Pereira M, Pinto S, Barros MDA, Swash M et al.	-Significativo aumento de los niveles en plasma de CC-16, que demuestra ser un biomarcador de fallo respiratorio inminente y de progresión de la enfermedad.	42
Combination of neurofilament heavy chain and complement c3 as CSF biomarkers for ALS	Ganesalingam J, An J, Shaw CE, Shaw G, Lacomis D, Bowser R	-Los niveles en LCR de la cadena fosforilada de neurofilamento fosforilado (pNfH) y el complemento C3 como biomarcador pronóstico en ELA.	43
Pathophysiological implications of actin-free-Gc-globulin concentration changes in blood plasma and CSF collected from patients with Alzheimer's disease and other neurological disorders	Kułałowska A, Taraśiuk J, Kapica-Topczewska K, Choraży M, Pogorzelski R, Kulczyńska-Przybik A et al.	-La concentración de globulina Gc libre en el suero de pacientes con ELA es significativamente mayor que el grupo de referencia, pudiendo ser utilizado como biomarcador diagnóstico en la etapa inicial de la enfermedad.	44
Evaluation of chitotriosidase and CC-Chemokine ligand 18 as biomarkers of microglia activation in ALS	Martinez-Merino L, Iridoy M, Galbete A, Roldán M, Rivero A, Acha B et al.	-Importante aumento de la actividad de la quitotriosidasa (ChT) y TNF α en muestras de LCR, por lo que son posibles biomarcadores de ELA esporádica.	45
Blood lead, bone turnover and survival in ALS	Fang F, Peters TL, Beard JD, Umbach DM, Keller J, Mariosa D et al.	-Las muestras plasmáticas de plomo, CTX y PINP como biomarcadores pronósticos.	46
TLQP peptides in ALS: possible blood biomarkers with a neuroprotective role	Brancia C, Noli B, Boido M, Pilleri R, Boi A, Puddu R et al.	-Péptidos TLQP como biomarcadores diagnósticos y de progresión de ELA.	47



NOMBRE DEL ARTÍCULO	AUTOR	RESULTADOS	REF.
A multi-matrix HILIC-MS/MS method for the quantitation of endogenous small molecule neurological biomarker N-acetyl aspartic acid (NAA)	Sangaraju D, Shahidi- Latham SK, Burgess BL, Dean B, Ding X	-Los niveles de ácido N-acetil aspártico (NAA) en muestra LCR son relativamente más bajos que en el grupo control, mientras que en la muestra plasmática no se encontraron diferencias.	48
ALS: a novel rare cause of elevated plasma troponin T levels	Von Lueder TG, Melsom MN, Atar D, Agewall S.	-En hasta el 50 % de pacientes con ELA se han reportado niveles elevados de CK.	49

Como se ha visto, la revisión bibliográfica presente demuestra que realmente sí existen biomarcadores moleculares potenciales tanto de diagnóstico como de progresión para la enfermedad de ELA. Aunque los resultados obtenidos son muy positivos, el conjunto de estudios encontrados en la realización de la búsqueda bibliográfica demuestra la falta de homogeneidad entre los resultados obtenidos, es decir, cada estudio realiza una búsqueda sobre proteínas o moléculas diversas sin llegar a un perfil de biomarcadores claro. Dicha falta de homogeneidad genera en sí misma una limitación en el análisis realizado.

Como perspectiva de futuro sería interesante ampliar el estudio sobre biomarcadores moleculares diagnósticos y de progresión para el diagnóstico precoz y el seguimiento de los pacientes con ELA. Asimismo, se deberían realizar estudios interdisciplinarios, ya que la ELA es una enfermedad muy compleja y no solamente es necesaria la toma de diversos biomarcadores moleculares tanto de pronóstico como de seguimiento, sino que también sería conveniente la toma de marcadores propios de otras disciplinas como la nutrición y la fisioterapia entre otras especialidades.

Tras el análisis exhaustivo realizado en el presente trabajo los marcadores más factibles que podrían utilizarse en un posible perfil de biomarcadores específicos de ELA serían los siguientes:

En la ELA familiar utilizaría SOD y TDP-43 como biomarcadores diagnósticos, puesto que esta variable de ELA se debe en gran medida a las mutaciones genéticas producidas en estas moléculas, aparte de la evidencia científica mostrada en los anteriores estudios.



En la ELA esporádica hay más variedad de marcadores, dado que el porcentaje de enfermos es mayor que en el tipo familiar y, por tanto, se han realizado más estudios.

Como biomarcadores diagnósticos se identifican: glutamato, cisteína, creatina, urato, L-ferritina, transferrina, ChT, TNF α y los péptidos TLQP (también sirven para monitorizar la progresión).

La creatinina, PCR, cistatina C, MCP-1, GM-CSF, G-CSF, CC-16, pNFH, complemento C3, plomo, CTX, PINP, IL-8, IL-10 e IL-12 serían los marcadores para evaluar la progresión de la enfermedad, además de proporcionar un pronóstico aproximado de supervivencia.

En cuanto a las conclusiones del trabajo, tras el análisis se observa que todos los estudios valorados analizan marcadores de fácil cuantificación y siempre en plasma sanguíneo (pero no todos ellos han sido específicos de ELA). Además, en la ELA esporádica se conforma un perfil de biomarcadores específico en el que se incorporan para el diagnóstico el glutamato, creatina, urato, L-ferritina, transferrina, ChT, TNF α y péptidos TLQP. Además, la PCR, cistatina C, MCP-1, GM-CSF, creatinina, urato y ciertas citoquinas inflamatorias son los biomarcadores de progresión en la enfermedad. Actualmente, se le da mucha importancia a la PCR como biomarcador.

En la ELA familiar queda demostrada la presencia de mutaciones genéticas en SOD y TDP-43 en la enfermedad, por lo que su uso como biomarcadores para el diagnóstico queda verificado. En el caso del seguimiento de la enfermedad ante una intervención, podrían utilizarse los marcadores descritos en la ELA esporádica.

Finalmente, es necesario contemplar un panel específico de biomarcadores moleculares en ELA no solamente para el diagnóstico precoz, sino para el seguimiento de la enfermedad en el estudio de su tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ingre C, Roos PM, Piehl F, Kamel F, Fang F. Risk factors for amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Epidemiol*, 2015; 7: 181-193.
2. Salameh JS, Brown RH Jr, Berry JD. Amyotrophic Lateral Sclerosis: Review. *Semin Neurol*. 2015, 35: 469-476.



3. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC, Turner MR, Eisen A, Hardiman O et al. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*, 2011; 377: 942-955.
4. Ajroud-Driss S, Siddique T. Sporadic and hereditary amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *Biochim Biophys Acta*, 2015; 1852: 679-684.
5. Rothstein JD. Current hypotheses for the underlying biology of amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 2009; 65: S3-9.
6. Turner MR, Bowser R, Bruijn L, Dupuis L, Ludolph A, McGrath M et al. Mechanisms, models and biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2013; 14: 19-32.
7. Barber SC, Shaw PJ. Oxidative stress in ALS: key role in motor neuron injury and therapeutic target. *Free Radic Biol Med*, 2010; 48: 629-641.
8. Carri MT, Valle C, Bozzo F, Cozzolino M. Oxidative stress and mitochondrial damage: importance in non-SOD1 ALS. *Front Cell Neurosci*, 2015; 9. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4330888/>>; fecha de consulta: 21 noviembre 2018.
9. Shaw PJ. Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005; 76: 1046-1057.
10. Niedzielska E, Smaga I, Gawlik M, Moniczewski A, Stankowicz P, Pera J et al. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol*, 2016; 53: 4094-4125.
11. Yuan S, Zhang ZW, Li ZL. Cell Death-Autophagy Loop and Glutamate-Glutamine Cycle in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Front Mol Neurosci*, 2017; 10. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5519524/>>; fecha de consulta: 21 noviembre 2018.
12. Bhat AH, Dar KB, Anees S, Zargar MA, Masood A, Sofi MA et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomed Pharmacother*, 2015; 74: 101-110.
13. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cell Physiol Biochem*, 2017; 44: 532-553.
14. Liu J, Wang F. Role of Neuroinflammation in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Cellular Mechanisms and Therapeutic Implications. *Front Immunol*, 2017; 8. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5567007/>>; fecha de consulta: 22 noviembre 2018.



15. Islam MT. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neuro-degenerative disorders. *Neurol Res*, 2017; 39: 73-82.
16. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative stress and neuro-degenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuroparmacol*, 2009; 7: 65-74.
17. Lall D, Baloh RH. Microglia and C9orf72 in neuroinflammation and ALS and frontotemporal dementia. *J Clin Invest*, 2017; 127: 3250-3258.
18. Komine O, Yamanaka K. Neuroinflammation in motor neuron disease. *Nagoya J Med Sci*, 2015; 77: 537-549.
19. Nagase M, Yamamoto Y, Miyazaki Y, Yoshino H. Increased oxidative stress in patients with amyotrophic lateral sclerosis and the effect of edaravone administration. *Redox Rep*, 2016; 21: 104-112.
20. LoGerfo A, Chico L, Borgia L, Petrozzi L, Rocchi A, D'Amelio A et al. Lack of association between nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 promoter gene polymorphisms and oxidative stress biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Oxid Med Cell Longev*, 2014; 432626. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3941162/>>; fecha de consulta: 9 febrero 2019.
21. O'Reilly ÉJ, Bjornevik K, Schwarzschild MA, McCullough ML, Kolonel LN, Le Marchand L et al. Pre-diagnostic plasma urate and the risk of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2018; 19: 194-200.
22. Baillet A, Chantepredrix V, Trocmé C, Casez P, Garrel C, Besson G. The role of oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease. *Neurochem Res*, 2010; 35: 1530-1537.
23. Cova E, Bongioanni P, Cereda C, Metelli MR, Salvaneschi L, Bernuzzi S et al. Time course of oxidant markers and antioxidant defenses in subgroups of amyotrophic lateral sclerosis patients. *Neurochem Int*, 2010; 56: 687-693.
24. Roos PM, Vesterberg O, Syversen T, Flaten TP, Nordberg M. Metal concentrations in cerebrospinal fluid and blood plasma from patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Biol Trace Elem Res*, 2013; 151: 159-170.
25. Di Natale C, Monaco A, Pedone C, Tessitore A, De Mase A, Tedeschi G et al. The level of 24-hydroxycholesteryl esters decreases in plasma of patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett*, 2018; 672: 108-112.



26. Cieslarova Z, Lopes FS, Do Lago CL, França MC Jr, Colnaghi Simionato AV. Capillary electrophoresis tandem mass spectrometry determination of glutamic acid and homocysteine's metabolites: Potential biomarkers of amyotrophic lateral sclerosis. *Talanta*, 2017; 170: 63-68.
27. Tremolizzo L, Sala G, Ferrarese C. Peripheral biomarkers of excitotoxicity in neurological diseases. En: Ritsner MS, editor. *The handbook of neuropsychiatric biomarkers, Endophenotypes and Genes*, vol. 3: *Metabolic and peripheral biomarkers*. Nueva York: Springer Science/Business Media, 2009: 85-106.
28. Lawton KA, Cudkowicz ME, Brown MV, Alexander D, Caffrey R, Wulff JE et al. Biochemical alterations associated with ALS. *Amyotroph Lateral Scler*. 2012; 13: 110-118.
29. Lawton KA, Brown MV, Alexander D, Li Z, Wulff JE, Lawson R et al. Plasma metabolomic biomarker panel to distinguish patients with amyotrophic lateral sclerosis from disease mimics. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*, 2014; 15: 362- 370.
30. Wuolikainen A, Jonsson P, Ahnlund M, Antti H, Marklund SL, Moritz T et al. Multi-platform mass spectrometry analysis of the CSF and plasma metabolomes of rigorously matched amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease and control subjects. *Mol Biosyst*, 2016; 12: 1287-1298.
31. Van Eijk RPA, Eijkemans MJC, Ferguson TA, Nikolakopoulos S, Veldink JH, Vanden Berg LH. Monitoring disease progression with plasma creatinine in amyotrophic lateral sclerosis clinical trials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2018; 89: 156-1561.
32. Grayaa S, Zerbinati C, Messedi M, HadjKacem I, Chtourou M, Ben Touhemi D et al. Plasma oxysterol profiling in children reveals 24-hydroxycholesterol as a potential marker for Autism Spectrum Disorders. *Biochimie*, 2018; 153: 80-85.
33. Wilson ME, Boumaza I, Lacomis D, Bowser R. Cystatin C: a candidate biomarker for amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One*, 2010; 5: 15133. Disponible en: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3000338/>>; fecha de consulta: 9 febrero 2019.
34. Wilson ME. *Protein biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis: Characterization and implications for disease pathogenesis*, tesis doctoral. University of Pittsburgh, 2012.



35. Verstraete E, Kuiperij HB, Van Blitterswijk MM, Veldink JH, Schelhaas HJ, Van Den Berg LH et al. TDP-43 plasma levels are higher in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler*, 2012; 13: 446-451.
36. Kasai T, Tokuda T, Ishigami N, Sasayama H, Foulds P, Mitchell DJ et al. Increased TDP-43 protein in cerebrospinal fluid of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neuropathologica*, 2009; 117: 55-62.
37. Carilho R, De Carvalho M, Swash M, Pinto S, Pinto A, Costa J. Vascular endothelial growth factor and amyotrophic lateral sclerosis: the interplay with exercise and noninvasive ventilation. *Muscle Nerve*, 2014; 49: 545-550.
38. Mitchell RM, Simmons Z, Beard JL, Stephens HE, Connor JR. Plasma biomarkers associated with ALS and their relationship to iron homeostasis. *Muscle Nerve*, 2010; 42: 95-103.
39. Mitchell RM. *Contribution of the polymorphisms to pathogenetic mechanisms of amyotrophic lateral sclerosis*, tesis doctoral. The Pennsylvania State University, 2010.
40. Su XW. *Investigating the interplay of intrinsic to extrinsic factors influencing amyotrophic lateral sclerosis disease progression*, tesis doctoral. The Pennsylvania State University, 2014.
41. Lunetta C, Lizio A, Maestri E, Sansone VA, Mora G, Miller RG et al. Serum C-Reactive Protein as a Prognostic Biomarker in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *JAMA Neurol*, 2017; 74: 660-667.
42. Pronto-Laborinho AC, Gromicho M, Pereira M, Pinto S, Barros MDA, Swash M et al. Plasma level of club-cell (CC-16) predicts outcome in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurol Scand*, 2018; 137: 233-237.
43. Ganesalingam J, An J, Shaw CE, Shaw G, Lacomis D, Bowser R. Combination of neurofilament heavy chain and complement C3 as CSF biomarkers for ALS. *J Neurochem*, 2011; 117: 528-537.
44. Kułakowska A, Tarasiuk J, Kapica-Topczewska K, Choraży M, Pogorzelski R, Kulczyńska-Przybik A et al. Pathophysiological implications of actin-free Gc-globulin concentration changes in blood plasma and cerebrospinal fluid collected from patients with Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Adv Clin Exp Med*, 2018; 27: 1075-1080.
45. Martinez-Merino L, Iridoy M, Galbete A, Roldán M, Rivero A, Acha B et al. Evaluation of Chitotriosidase and CC-Chemokine Ligand 18 as Bio-



- markers of Microglia Activation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurodegener Dis*, 2018; 18: 208-215.
46. Fang F, Peters TL, Beard JD, Umbach DM, Keller J, Mariosa D et al. Blood Lead, Bone Turnover, and Survival in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Am J Epidemiol*, 2017; 186: 1057-1064.
47. Brancia C, Noli B, Boido M, Pilleri R, Boi A, Puddu R et al. TLQP Peptides in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Possible Blood Biomarkers with a Neuroprotective Role. *Neuroscience*, 2018; 380: 152-163.
48. Sangaraju D, Shahidi-Latham SK, Burgess BL, Dean B, Ding X. A multi-matrix HILIC- MS/MS method for the quantitation of endogenous small molecule neurological biomarker N-acetyl aspartic acid (NAA). *J Pharm Biomed Anal*, 2017; 140: 11-19.
49. Von Lueder TG, Melsom MN, Atar D, Agewall S. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), a novel rare cause of elevated plasma troponin T levels. *Clin Lab*, 2011; 57: 615-618.